

桃蚜对[反]- β -法尼烯的行为 及电生理反应

张钟宁 涂美华 杜永均 方宇凌 陆 翊 刘 珣

(中国科学院动物研究所 北京 100080)

路 虹

(北京市农林科学院植保环保所 北京 100081)

摘要 [反]- β -法尼烯([E]- β -farnesene)是多种蚜虫的报警信息素成分。本文用触角分部切断法,检测到桃蚜 *Myzus persicae* 触角对 [反]- β -法尼烯的敏感部位在原生感觉圈。嗅觉反应表明 [反]- β -法尼烯对桃蚜的驱拒效果极显著。触角电位检测结果表明成蚜对 [反]- β -法尼烯的电生理反应比若蚜敏感。

关键词 桃蚜, 报警信息素, [反]- β -法尼烯, 触角, 行为反应, 电生理反应

蚜虫在感受到天敌捕食或寄生等危险时,能从腹管中分泌出使周围蚜虫逃散的一些物质(即蚜虫报警信息素),[反]- β -法尼烯是多种蚜虫报警信息素的主要组分^[1~4],该物质为倍半萜烯类化合物,易挥发,有特殊气味。

桃蚜 *Myzus persicae* 对 [反]- β -法尼烯有很强的报警反应。本文利用合成的 [反]- β -法尼烯,选择不同的浓度对桃蚜进行刺激,表明其有很好的驱拒活性,且浓度过高,其活性反而会降低^[5]。在生物活性检测中,作者使用的两种方法,一为网罩法,一为嗅觉仪法。在触角电位测定中,桃蚜的触角对 [反]- β -法尼烯有强的电生理反应;且通过分部切除触角的活性实验表明:桃蚜对 [反]- β -法尼烯刺激感受强烈的部位在原生感觉圈。

1 材料和方法

1.1 [反]- β -法尼烯

[反]- β -法尼烯是由橙花叔醇(nerolidol)合成的^[6],产物经制备气谱分离纯化得纯品。

1.2 蚜虫种群

将桃蚜接种在温室油菜叶片上,令其自然繁衍。

1.3 生物活性测定方法

1.3.1 行为测定: (1) 触角切断法:选择 4 龄有翅桃蚜,用细微手术刀将触角鞭部剪掉

作为一组; 在第 4 节处剪断(去掉原生感觉圈及鞭部)为另一组; 用触角未受伤害的正常蚜虫为对照组。每组设 10 个重复, 每个重复 10 头蚜虫。将各组蚜虫分别置于塑料网罩内, 夹于油菜植株叶片背面栖息 24 h。(2) 网罩法: 选择 4 龄以上的桃蚜 20 头左右, 引种于油菜叶上, 并用塑料网罩罩住, 令其正常栖息。24 h 后, 将网罩打开, 并用 0.5% 浓度的 [反] - β -法尼烯己烷溶液 1 μ L, 缓慢施于蚜虫栖息地中心部位。观察 1 min 和 5 min 蚜虫移动的数目, 并与对照组(己烷)进行差异显著性 t 检验。(3) 嗅觉仪法: 嗅觉仪用有机玻璃为材料, 参考 Pettersson^[7]和 Vet^[8]等的装置而设计制作的。经通入氨气, 以酚酞酒精溶液为显色剂检验, 表明各象限气流界限清晰、均匀、稳定。嗅觉仪示意图见图 1。

在嗅觉仪的中心放置 15 头蚜虫。嗅觉仪的 4 个角以 30 mL/min 的速度经抽气泵通入经蒸馏水的潮湿空气。其中一个角导入的潮湿空气先经过样品, 另外三个角导入空气为对照。记录导入样品及对照后 10 min 时蚜虫在各象限内的数目。每个样品在一个角重复 3 次。然后用 95% 乙醇清洗, 并用吹风机吹干。实验环境温度为 20℃, 光源为自然光。

1.3.2 电生理测定法: 触角电位测定仪自行组装。玻璃电极用内径 2 mm 玻璃毛细管拉制而成。使用前去掉部分顶端, 玻璃电极中通入直径为 0.2 mm 的银-氯化银电极, 连接微电极交直流放大器(NIHON, KOHDEN, MEZ-7101), 并串联后级放大器(南京电生理仪器厂, FZG-1A), 示波器(HAMEG, HM-203-6)和记录仪(Gould, Recorder220)。

将蚜虫自前胸与中后胸之间切下头胸部, 除去前足及一条触角。将另一触角切除顶端, 记录电极套在触角顶端上, 将参考电极插入蚜虫触角基部。玻璃电极内灌入适量生理液。

用正己烷将合成的 [反] - β -法尼烯配成 0.1% 和 0.01% 浓度的溶液。分别将它们对蚜虫触角进行气味刺激(流量 80 mL/min), 每次刺激时间为 0.2 s。间隔为 30 s 以上。

触角的活性可能随时间而变化, 故使用 1% 的顺-3-己烯-1-醇己烷溶液为参照样品。样品刺激与对照刺激相间进行。

2 结果与讨论

2.1 桃蚜的触角对 [反] - β -法尼烯的感受部位

触角是蚜虫的嗅觉器官所在部位, 其作用是感受外界的化学信息。有翅桃蚜的触角共有 6 节。第 6 节称端节, 分基部和鞭部两个部分, 在它们交界处以及第 5 节靠近端部各有一个原生感觉圈; 在第 3 节上生有次生感觉圈。触角示意图见图 2。

将 [反] - β -法尼烯配成 1 μ L/mL 的己烷溶液。把塑料网罩打开, 将上述样品 1 μ L 缓慢施于切断触角各组蚜虫栖息部位的叶片上, 观察蚜虫移动情况, 并进行显著性 t 检验。结果见表 1。

按表 1 的结果, 三种不同处理触角的蚜虫对 [反] - β -法尼烯的行为反应有较大差异。对 [反] - β -法尼烯产生报警反应最为敏感的是全触角保留组(即触角未受损伤), 其移动率为 70%。去触角鞭部组的敏感性次之, 其移动率为 66%。而去掉原生感觉圈, 仅保留次生感觉圈组的蚜虫对 [反] - β -法尼烯的报警反应, 最不敏感, 其移动率仅为 16%。全触角组与去鞭部组之间的 t 检验值为 0.02, 表明两组数据未有明显差异。这表明对桃蚜

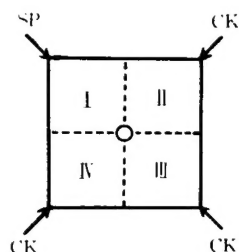


图 1 嗅觉仪示意图

I~IV 为 4 个象限； SP 为样品气体导入； CK 为对照气体导入； O 为蚜虫施放位置及气体出口

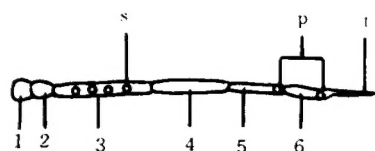


图 2 蚜虫触角示意图

1~6 为触角各节； p 为原生感觉圈； s 为次生感觉圈； t 为鞭部

触角的轻微伤害，其触角对 [反]- β -法尼烯的反应不受影响。而仅具次生感觉圈组与全触角组和去鞭部组的 t 检验值分别为 4.02 和 3.34，两者均在 99% 的水平上显著。

这个实验结果表明，桃蚜触角对蚜虫报警信息素 [反]- β -法尼烯的敏感感受部位，在原生感觉圈，不在次生感觉圈的部位。

2.2 桃蚜对 [反]- β -法尼烯的报警活性反应

网罩法：对正常栖息态的蚜虫种群，施以 $1 \mu\text{L}$ ，浓度为 0.5% 的 [反]- β -法尼烯己烷溶液，1 min 和 5 min 后分别观察蚜虫移动。以己烷为对照，结果见表 2。

表 1 桃蚜触角不同部位对 [反]- β -法尼烯的报警行为反应 (网罩法)

	触角全保留	去触角鞭部	仅具次生感觉圈
移动平均值 (%)	70	66	16
t 检验值			
全触角	—	0.02	4.02*
去鞭部	0.02	—	3.34*

* 在 99% 的水平上显著。 $t=3.25$ $P<0.05$

表 2 桃蚜对 [反]- β -法尼烯报警活性反应 (网罩法)

	移动率	均值 (%)
时间	1 min	5 min
己烷	2.0	2.4
[反]- β -法尼烯	36.0	37.6
t 检验	5.53	7.71
	$t=4.07$	$P<0.001$

根据表 2 可见，[反]- β -法尼烯对桃蚜有极为明显的驱散作用，以己烷为对照时，1 min 和 5 min 桃蚜的移动率仅分别为 2% 和 2.4%；而在 [反]- β -法尼烯的刺激下，桃蚜在 1 min 和 5 min 时其移动率分别高达 36% 和 37.6%。对照组与处理组在 1 min 和 5 min 的 t 检验分别为 5.53 和 7.71，高于在 99.9% 水平显著性检验值 4.07。由此可见，[反]- β -法尼烯对桃蚜的栖息行为有明显的影晌作用。

嗅觉仪测验法：嗅觉仪试验共进行了 10 次重复，其结果见表 3。其中蚜虫均数是指桃蚜栖息于各个象限内蚜虫的平均数。

在嗅觉仪的实验中，第 I 象限是 [反]- β -法尼烯的充溢区。蚜虫的初始状态是在嗅觉仪的中心位置，一旦实验开始，[反]- β -法尼烯充溢第 I 象限时，大部分蚜虫立刻向其相反方向逃逸，进入第 III 象限，其中部分或直接进入或经第 III 象限扩散进入 I、IV 象限。故处在第 III 象限的蚜虫最多，I、IV 象限次之，小部分蚜虫或在移动中或对 [反]- β -法

尼烯的刺激反应弱而处于第 I 象限。

表 3 桃蚜对 [反]- β -法尼烯的报警活性反应 (嗅觉仪)

	无翅成蚜				有翅成蚜			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
蚜虫均数	9.8	11.7	39.2	14.3	11.5	12.3	33.6	17.6
	—	1.53	24.77	2.00	—	0.82	28.68	2.24
t 检验	—	—	22.67	1.57	—	—	27.80	1.29
	—	—	—	20.68	—	—	—	25.05
$t=2.26 \quad P<0.05$				$t=4.78 \quad P<0.001$				

实验结果表明, 有翅桃蚜和无翅桃蚜对 [反]- β -法尼烯均有强的报警活性反应。由于 [反]- β -法尼烯的作用, 栖息于第 III 象限的蚜虫数明显高于其它三个象限。 t 检验值均大于 20.0, 远高于在 99.9% 水平上显著值 4.78。这说明了 [反]- β -法尼烯对桃蚜确实有着明显的驱拒作用。

由于桃蚜对 [反]- β -法尼烯的报警反应强, 故首先进入第 III 象限, 而进入第 I、II、IV 象限的蚜虫均明显少于第 III 象限。其中第 I 象限的蚜虫数, 又少于第 II、IV 象限。I 象限与 II、IV 象限相比较的 t 检验值表明无显著性差异。

2.3 桃蚜 [反]- β -法尼烯的触角电位反应 (EAG)

本实验检测了不同形态的蚜虫 (有翅、无翅) 之触角对 0.1% 和 0.01% 两个浓度的 [反]- β -法尼烯的己烷溶液的电生理反应。实验以顺-3-己烷-1-醇为参比化合物。结果见表 4。表中的数值为处理与对照之触角电位的百分比, 即相对 EAG。

表 4 桃蚜触角对 [反]- β -法尼烯 EAG 反应相对值

	成蚜		若蚜	
	有翅	无翅	有翅	无翅
0.1%EBF	149	81	123	140
0.01%EBF	166	143	109	116

注: EBF ([反]- β -法尼烯)

从表 4 的结果来看, 桃蚜的触角对 [反]- β -法尼烯的刺激, 有明显的电生理反应, 不管成蚜或若蚜, 有翅或无翅均如此。其中成蚜对低浓度的 [反]- β -法尼烯的反应强于高浓度的; 而对若蚜来讲则是高浓度的强于低浓度的。这可能是成蚜的防御系统 (包括释放和接受) 已发育完全, 而若蚜的防御系统则尚未发育完全所致。

桃蚜对 [反]- β -法尼烯的反应有一个最佳浓度范围^[9~10]。如果浓度太低则不足以引起刺激反应, 但浓度过高时, 其对刺激的反应反而被抑制。

参 考 文 献

- 1 Bower W S, Nault L R, Webb R E, Dutky S R. Aphid alarm pheromone: isolation, identification, synthesis. Science, 1972, 177: 1121~1122
- 2 Edwards L J, Siddall J B, Dunham L L, Uden P *et al.* Trans-(β)-farnesene, alarm pheromone of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). Nature, 1973, 241: 126~127

- 3 Nault L R, Edwards L J, Styer W E. Aphid alarm pheromones: secretion and reception. *Env. Ent.*, 1973, **2**: 101~105
- 4 Pickett J A, Griffiths D C. Composition of aphid alarm pheromones. *J. Chem. Ecol.*, 1980, **6**: 349~360
- 5 张钟宁, 刘珣, 梅雪琴等. 蚜虫报警信息素与杀虫剂混用——一种防治蚜虫新方法的研究. *动物学集刊*, 1993, **10**: 1~5
- 6 Dawson G W, Griffiths D C, Pickett J A, Smith M S *et al.* Improved preparation of (E)- β -farnesene and its activity with economically important aphids. *J. Chem. Ecol.*, 1982, **8**: 1111~1117
- 7 Pettersson J. Studies on *Rhopalosiphum padi* (L.) 1. Laboratory studies on olfaction responses to the winter host *Prunus papus* (L.) *Lantbrukshogsk Annlr* 1970, **36**: 381~399
- 8 Vet L E M, Lenteren J C C van, Heymans M, Meelis E. An airflowolfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiological Entomology*, 1983, **8**: 97~106
- 9 Wientjens W H J M, Lakwijk A C, Van Der Marel T. Alarm pheromone of grain aphids. *Experientia*, 1973, **29**: 658~660
- 10 张钟宁, 陈晓社, 张广学, 刘珣等. 蚜虫报警信息素与类似物的合成及其对桃蚜定居行为的影响. *昆虫学报*, 1989, **32**: 376~379

BEHAVIORAL AND ELECTROPHYSIOLOGICAL RESPONSE OF *MYZUS PERSICAE* TO STIMULUS OF (E)- β -FARNESENE

Zhang Zhongning Tu Meihua Du Yongjun Fang Yuling Lu Yi Liu Xun

(Institute of Zoology, Academia Sinica Beijing 100080)

Lu Hong

(Institute of Plant and Environmental Protection, Beijing Academy of
Agricultural and Forestry Sciences Beijing 100081)

Abstract (E)- β -farnesene is a main component of aphid alarm pheromone. The sensory part of an antennae of *Myzus persicae* to (E)- β -farnesene is located in the primary rhinaria as shown by cutting antennae experiment. The results of olfactory test showed that (E)- β -farnesene was very effective in repelling *Myzus persicae* and the capability of response to (E)- β -farnesene in the adult *Myzus persicae* is stronger than that in the young ones by EAG test.

Key words *Myzus persicae*, alarm pheromone, (E)- β -farnesene, antennae, behaviour response, electrophysiological response